

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد)

نگارندگان

دکتر فاطمه رهبری زاده

دکتر غلامرضا اسدی کرم

دکتر فاطمه رحیمی جمنانی



سرشناسه: رهبری زاده، فاطمه، 1349 -
عنوان و نام پدیدآور: آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال: از تولید تا کاربرد/ نگارندگان فاطمه رهبری زاده، غلامرضا اسدی کرم، فاطمه رحیمی جمنانی.

مشخصات نشر: تهران: دانشگاه تربیت مدرس، مرکز نشر آثار علمی، 1395.
مشخصات ظاهری: 254ص.؛ مصور(رنگی). جدول.

فروست: دانشگاه تربیت مدرس؛ شماره انتشار 199/31.

شابک: 978-600-7589-27-4

وضعیت فهرست نویسی: فیبا

یادداشت: کتابنامه

موضوع: پادتن‌ها

موضوع: Immunoglobulins

موضوع: پادتن‌های تک‌کلنی

موضوع: Monoclonal antibodies

موضوع: ایمنی‌شناسی مولکولی

موضوع: Molecular immunology

شناسه افزوده: اسدی کرم، غلامرضا، 1345 -

شناسه افزوده: رحیمی جمنانی، فاطمه، 1360 -

شناسه افزوده: دانشگاه تربیت مدرس، مرکز نشر آثار علمی

شناسه افزوده: Tarbiat Modares University. TMU Press

رده‌بندی کنگره: 1395 9 2 پ/ QR186/7

رده‌بندی دیویی: 616/079

شماره کتابشناسی ملی: 4275660

آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال (از تولید تا کاربرد)

نگارندگان: دکتر فاطمه رهبری زاده، دکتر غلامرضا اسدی کرم، دکتر فاطمه رحیمی جمنانی

ویراستار ادبی و فنی: زهرا نایع

طراح جلد: دکتر سید نجم الدین شاه کرمی

صفحه‌آرا: سمیه زهانی

ناشر: مرکز نشر آثار علمی دانشگاه تربیت مدرس

شماره انتشار: 199/31

شماره پیاپی: 229

تاریخ انتشار: 1395

شمارگان: 1000

ISBN: 978-600-7589-27-4

شابک: 978-600-7589-27-4

نویت چاپ: اول

کارشناس اجرایی: فاطمه طالبی

ناظر چاپ: مصطفی جانجانی

لیتوگرافی: ایران گرافیک

چاپ و صحافی: قشقایی

مرکز پخش: تقاطع بزرگراه‌های آل‌احمد و دکتر چمران،

دانشگاه تربیت مدرس، مرکز نشر آثار علمی، صندوق پستی: ۳۱۸-۱۴۱۱۵

دورنگار: ۸۲۸۸۳۰۳۲

تلفن: ۸۲۸۸۳۰۹۶

بها: ۱۶۰۰۰۰ ریال

صحت مطالب کتاب بر عهده نگارندگان است.

تقدیم

باسلام به معلم بزرگ انسانیت حضرت رسول اکرم (ص) و خاندان مطهرش، کسی که کلام و قلم از وصف وجود پاکش قاصر است و همچون زمان حیات مبارکش، امروز نیز به رفد دشمنی‌های پلیدترین خلائق روزگار است و افسوس که این سیه‌دلان خافند از اینکه، زلال وجودش مبر از هر افترا است و تاریخ صادق‌ترین گواه این مدعاست.

بال بلخ به شازجم حقیرماست

عمریست که مور ملک سلیمان احمدیم

تقدیم به آنان که در مراحل مختلف از زندگی مان به ما آموختند؛

تقدیم به آنانکه شینه آموختن اند؛

تقدیم به آنان که صور زنه مارا گل کردند و اجازه دادند تا وقتی که متعلق به آنان بود برای جمع آوری این مطالب استفاده شود.

پیشگفتار ناشر

حکایت خواندن و نوشتن، نشان از هویت دینی و ملی ایرانیان است که حضرت حق فرمان را بر خواندن نهاد و این‌گونه رسالت خاتم خود را آغاز کرد.

دانشگاه تربیت مدرس نیز همگام با رسالت خطیر خود، در راستای اجرای بند 7 آیین‌نامه پذیرش «کتاب‌های تألیف و ترجمه‌ای دانشگاه تربیت مدرس» و با هدف ارائه و نشر نتایج پژوهش‌های نخبگان جامعه علمی کشور در طی تدریس، تحقیق، راهنمایی و مشاوره پایان‌نامه‌های کارشناسی ارشد و رساله‌های دکتری دانش‌پژوهان و بهره‌مندی از آخرین پژوهش‌ها و یافته‌های محققان ایران و جهان به‌منظور تأمین منابع علمی دانشگاه‌های کشور، منطقه و جهان، با سفارش تألیف در این عرصه گام نهاده است.

در این راستا سی‌ویکمین کتاب سفارش تألیف، با عنوان «آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد)» تألیف دکتر فاطمه رهبری‌زاده عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت مدرس را پیش روی خوانندگان گرامی قرار داده است.

امید است نخبگان و صاحب‌نظران، ضمن یاری رساندن به دانشگاه، پیشنهادهای ارزنده خود را نیز به‌منظور اجرای موفق و مناسب این طرح، ارائه فرمایند.

با آرزوی توفیق الهی

دکتر یعقوب فتح‌الهی

معاون پژوهشی و فناوری دانشگاه

فهرست مطالب

پیشگفتار.....	ط
فصل 1- آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال.....	1
تعریف واژه‌ها.....	1
مقدمه.....	5
ایمونوگلوبولین‌ها.....	6
نواحی ایمونوگلوبولین.....	8
الف- دومین.....	8
ب- ناحیه لولا.....	10
ج- نواحی متغیر و نواحی بسیار متغیر.....	12
زیرکلاس‌های ایمونوگلوبولین‌ها (انواع ایمونوگلوبولین).....	13
IgG.....	13
IgM.....	14
IgA.....	15
IgE.....	16
IgD.....	16
خواص الکتروفورزی ایمونوگلوبولین‌ها.....	16
تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال.....	17
انتخاب حیوان.....	19

ب آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد)

- 21..... روش‌های متداول ایمونیزاسیون
- 23..... یاری‌دهندگان
- 27..... تزریق آنتی‌ژن به حیوان آزمایشگاهی
- 28..... خون‌گیری از حیوان آزمایشگاهی
- 29..... تعیین تیتراژ آنتی‌بادی
- 29..... روش کار (آزمون رادیوایمنوآسی)
- 30..... تعیین میزان واکنش ناخواسته
- 31..... آنالیز اسکات‌چارد
- 32..... تهیه قطعات آنتی‌بادی
- 32..... الف - هضم ایمونوگلوبولین‌ها برای تهیه قطعه Fab با استفاده از پاپایین
- 34..... ب - هضم ایمونوگلوبولین‌ها برای تهیه $F(ab)_2$ با استفاده از پپسین
- 34..... ذخیره‌سازی آنتی‌بادی‌ها
- 36..... آنتی‌ژن و ایمونوژن
- 37..... آنچه در مورد آنتی‌ژن‌ها باید بدانیم
- 38..... الف - اندازه مولکولی
- 38..... ب - ماهیت ساختار
- 39..... ج - بیگانگی
- 40..... د - پایداری ساختاری
- 40..... ه - انهدام‌پذیری
- 40..... کنژوگه کردن هاپتن‌ها
- 41..... انواع حامل‌ها
- 43..... اتصال هاپتن به پروتئین‌ها
- 45..... گروه‌های عامل فعال در اتصال مولکول‌های هاپتن به پروتئینی
- 45..... الف - آمین‌ها
- 46..... ب - تیول‌ها
- 47..... ج - کربوهیدرات‌ها

فهرست مطالب ج

- 48..... روش‌های اتصال هاپتن-پروتئین
- 48..... الف - استفاده از کربودیמיד
- 49..... ب - روش گلوتارآلدهید
- 50..... ج - روش بیس-مالیמיד
- 51..... د - روش‌هایی که از گروه‌های عاملی متفاوت استفاده می‌شود
- 52..... اتصال پروتئین-پروتئین
- 52..... گروه‌های عاملی فعال در متصل کردن پروتئین‌ها
- 52..... الف - آمین‌ها
- 54..... ب - تیول
- 54..... ج - کربوهیدرات‌ها
- 55..... د - سایر گروه‌ها
- 56..... روش‌های اتصال پروتئین - پروتئین
- 58..... الف - روش پیریدات
- 60..... ب - روش گلوتارآلدهید
- 61..... ج - روش بیس - مالیמיד
- 61..... د - روش‌های مالیמיד - تیول هتروبی‌فانکشنال و راه‌های وابسته
- 63..... اساس سنجش‌های ایمنی
- 64..... طراحی سنجش
- 65..... اشکال سنجش
- 66..... روش تعیین غلظت مطلوب آنتی‌بادی‌ها
- 67..... نشانه‌های مورد استفاده در سنجش‌های ایمونولوژیکی
- 68..... تهیه استاندارد یا کالیبرانت
- 70..... معرف‌های عمومی در سنجش‌های ایمنی
- 71..... انتخاب محیط زمینه (ماتریکس)
- 72..... حذف آنالیت‌های درون سرم با استفاده از ستون ذغال فعال یا ستون سلولز
- 74..... شرایط واکنش و غلظت معرف‌های مناسب در آزمون‌های ایمنی

د آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد)

76.....	معتبرسازی سنجش.....
77.....	الف- دقت در درون سنجش و بین سنجش.....
78.....	ب- Drift.....
79.....	ج - مقایسه با روش استاندارد.....
79.....	د- بازیابی و آزمایش‌های رقیق‌سازی.....
79.....	ه - فاکتورهای مداخله‌کننده در سنجش‌های ایمنی.....
81.....	کاربرد آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال در درمان.....
84.....	آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال نو ترکیب اختصاصی آنتی‌ژن.....
87.....	فرآورده‌های درمانی پلی‌کلونال.....
89.....	کاربردهای دفاعی زیستی آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال.....
90.....	آینده مواد درمانی پلی‌کلونال.....
93.....	فصل 2- آنتی‌بادی‌های منوکلونال
93.....	تعریف واژه‌ها.....
94.....	مقدمه.....
95.....	اصول کلی تولید آنتی‌بادی منوکلونال.....
95.....	آماده‌سازی لئوسیت‌های ایمن.....
97.....	تهیه سلول میلوما.....
102.....	انتخاب سلول‌های میلوما برای پیوند سلولی.....
103.....	انواع سلول‌های میلوما.....
106.....	ادغام یا امتزاج سلولی.....
106.....	الف- ادغام با ویروس سندایی.....
107.....	ب- پلی‌اتیلن گلاایکول.....
108.....	ج- امتزاج الکتریکی سلول‌ها.....
108.....	د- پیوند سلولی به وسیله میدان الکتروآکوستیک.....
109.....	ه- امتزاج به کمک لیزولسیتین.....

فهرست مطالب ه

109 محیط انتخابی
109 الف - آزاسرین
109 ب - آنالوگ‌های فولات
110 سلول‌های تغذیه‌ای
111 الف - سلول‌های تغذیه‌ای طحال موش
111 ب - ماکروفاژهای صفاقی
112 ج - سلول‌های تغذیه‌ای تیموسیت‌های موش
112 روش‌های غربالگری
113 کلون کردن سلول‌ها
113 الف - استفاده از آگار نیمه جامد
114 ب - رقیق‌سازی متوالی یا آزمون رقت محدود
114 ج - FACS (جداسازی سلول‌ها نشان‌دار شده با فلورسنت)
115 نگهداری سلول‌ها به صورت منجمد
115 روش‌های تولید انبوه آنتی‌بادی منوکلونال
115 الف - تکثیر کلونی‌ها در آزمایشگاه (<i>in vitro</i>)
117 ب - تزریق داخل صفاق موش جهت تولید مایع آسیت (<i>in vivo</i>)
118 تعیین خصوصیات آنتی‌بادی منوکلونال
119 تخلیص
119 انواع روش‌های تخلیص آنتی‌بادی منوکلونال
120 الف - ایجاد رسوب با سولفات آمونیوم یا اسید کاپریلیک
121 ب - تخلیص با کروماتوگرافی تعویض یون
121 ج - تخلیص با کروماتوگرافی تمایلی به وسیله پروتئین A یا G
122 د - تخلیص با ایمونوافینیته کروماتوگرافی
122 نگهداری سلول‌ها به صورت منجمد
122 کاربردهای آنتی‌بادی منوکلونال
122 الف - به‌کارگیری در تخلیص

و آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد)

- 123..... ب- کاربرد تشخیصی
- 123..... ج- کاربرد درمانی
- 124..... د- تهیه واکسن
- 124..... ه- دیگر کاربردها
- 124..... انواع آنتی‌بادی‌های منوکلونال
- 125..... الف- آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی
- 125..... ب- آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی
- 125..... ج- تولید هیبریدومای پایدار بین گونه‌ای موش - گاو
- 127..... د- تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال در اسب‌ها
- 127..... ه- تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال در سایر چونندگان
- 127..... روش‌های دیگر تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال
- 128..... 1- مطالعات ترانسفرمه کردن با استفاده از ویروس اپشتین بار به منظور نامیرا کردن لنفوسیت‌ها..
- 129..... 2- ایمن کردن لنفوسیت‌های B انسانی در آزمایشگاه (*in vitro*)
- 130..... 3- فناوری هیبریدومای انسانی
- 130..... 4- فناوری nu- PBL- SCID - mice
- 130..... 5- لنفوسیت‌های T کمکی CD57⁺ در خون محیطی و بافت‌های لنفوئیدی ثانویه
- 131..... 6- تولید آنتی‌بادی منوکلونال انسانی به وسیله هتروهیبریدوما و هیبرید - هیبریدوما
- 133..... تولید انبوه آنتی‌بادی منوکلونال؛ *in vivo* و *in vitro*
- 134..... مزایای روش‌های *in vitro*
- 134..... معایب روش‌های *in vitro*
- 135..... مزایای روش *in vivo*
- 136..... معایب روش *in vivo*
- 136..... کشت انبوه سلول‌های هیبریدوما
- 137..... هزینه‌های افزایش مقیاس کشت سلولی
- 138..... عوامل مؤثر بر کشت انبوه
- 139..... الف- محیط کشت سلولی

فهرست مطالب ز

140	ب- نقش سرم در محیط کشت سلولی
142	ج- تغییرات pH محیط
144	د- فشار اکسیژن
145	ه- پتانسیل احیا
146	راهکارها و روش‌های تولید انبوه آنتی‌بادی‌های منوکلونال
146	الف- راهکارهای تولید انبوه در سیستم <i>in vivo</i>
147	1- حیوان آزمایشگاهی
147	2- آماده‌سازی حیوان
148	3- تأیید عملکرد تولید توسط رده هیبریدوما
148	4- جمع‌آوری مایع آسیت
149	ب- راهکارهای تولید انبوه در سیستم <i>in vitro</i>
151	انواع کشت انبوه در <i>in vitro</i>
151	1- کشت به روش سری
152	2- کشت غیر مداوم توأم با گذارسانی
152	3- کشت به روش گذارسانی مداوم
152	4- کشت با جریان مداوم
152	فناوری بیوراکتور
153	سیستم‌های به‌دام اندازنده سلول‌ها
153	الف- الیاف
154	ب- محفظه‌های سرامیکی
155	ج- بسترهای متخلخل
156	انواع بیوراکتورها
156	الف- انواع بیوراکتورهای کشت سلول‌های چسبنده
157	ب- انواع بیوراکتورهای کشت سلول‌های معلق
157	1- کشت‌های معلق ساکن
158	2- کشت‌های معلق متحرک

ح آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و مونوکلونال (از تولید تا کاربرد)

161	3- کشت‌های معلق با سیستم نگهداری و تثبیت سلول‌ها
165	فرایند بیوراکتوری
166	الف- درصد بیان
167	ب- درجه خلوص
167	ج- بازده تخلیص
168	د- بازده فرایند
168	پیش‌پالایش
169	الف- جداسازی سلول‌ها
169	ب- کاهش حجم
170	عملیات پالایش
172	تعیین کمیت و فعالیت محصول به‌دست‌آمده
172	ذخیره‌سازی و نگهداری
172	مزایا و معایب
180	کاربردهای آنتی‌بادی‌های مونوکلونال
181	پیشینه‌ای کوتاه از آنتی‌بادی‌های کنژوگه
184	آنتی‌بادی‌های متصل شده (کنژوگه) به عوامل درمانی
185	الف- آنتی‌بادی‌های کنژوگه به دارو (کنژوگه‌های آنتی‌بادی - دارو)
188	ب- رادیوایمونوکنژوگه‌ها
190	ج- آنتی‌بادی‌های کنژوگه به توکسین - ایمونوتوکسین‌ها
194	مروری بر آنتی‌بادی‌های مونوکلونال درمانی موجود در بازار دارویی دنیا
199	آنتی‌بادی‌های مونوکلونال درمانی در حال بررسی در فازهای مختلف از کارآزمایی‌های بالینی
203	فهرست منابع
219	واژه‌نامه فارسی به انگلیسی
225	واژه‌نامه انگلیسی به فارسی
231	نمایه

پیشگفتار

پیشرفت‌های علوم مولکولی و علوم سلولی و زیستی در سه دهه اخیر به‌طور قابل توجهی افق‌های دید محققان را گسترده کرده است. مولکول‌های آنتی‌بادی به‌عنوان یکی از با ارزش‌ترین و پرکاربردترین ابزارهای علم بیولوژی نه تنها به‌عنوان یک عامل شناساگر مولکولی با کاربرد تحقیقاتی، بلکه به‌عنوان یک ابزار تشخیصی و درمانی مؤثر به‌کار می‌روند.

در طی سال‌های گذشته در کلاس‌های درس و یا برخورد با دانشجویان و یا علاقه‌مندان علوم زیستی مربوطه، بارها درباره کتابی به زبان فارسی در موضوع آنتی‌بادی، که در مورد تولید، کاربرد و در مجموع هر آنچه به آنتی‌بادی مربوط می‌شود، مورد سؤال قرار گرفته‌ایم و همیشه این کاستی در مجموعه کتاب‌های علمی و درسی فارسی زبان حس می‌شد. کتاب پیش‌رو همه مسائل در عرصه آنتی‌بادی را به زبانی شیوا و به‌طور کامل توضیح می‌دهد و روش‌های تولید و موارد کاربرد آنتی‌بادی‌ها را تحلیل کرده است. اگرچه روش‌های اصلی تولید انواع آنتی‌بادی‌ها تغییر زیادی نکرده است، ولی در این کتاب سعی کردیم که همه این مطالب را در مجموعه دو جلدی جمع‌آوری و به روزرسانی کنیم. این کتاب برای محققان علوم زیستی و نیز دانشجویان کارشناسی ارشد (M.Sc.) و دکتری حرفه‌ای و نیز تخصصی (Ph.D.) که به تولید و کاربرد مولکول آنتی‌بادی علاقه‌مند هستند، مفید و قابل استفاده است. نگارش این کتاب به نحوی است که هم برای محققان تازه‌کار و هم برای سروران با تجربه کاربرد دارد. در اغلب موارد سعی شده است که با

ی آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد)

توضیحات جامع و کامل راجع به موضوع بحث و بررسی انجام شود. البته پیشاپیش متذکر می‌شود که امکان ارائه تمام روش‌ها در این کتاب‌ها غیر ممکن بود، ولی تلاش شد که روش‌های مفید این عرضه تبیین شود. ذکر منابع اصلی در اغلب روش‌ها مشکل بود، زیرا بعضی از آنها تغییر داده شده و اصلاح و بعضی نیز برگرفته از تجربیات شخصی نگارندگان است. در متن کتاب تلاش شده که از لغات متداول فارسی استفاده شود به طوری که قابلیت درک صحیح موضوع خدشه‌دار نشود، اما در مواردی که لغت انگلیسی متداول‌تر بوده، به‌ناچار از لغات انگلیسی استفاده شده است.

منابع در پایان هر فصل ذکر شده که شامل کتاب و مقاله است.

پس از جمع‌آوری تمام مطالب به نظر می‌رسید که بهترین روش دسته‌بندی و تقسیم مجموعه به دو کتاب باشد. کتاب اول با عنوان آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال (از تولید تا کاربرد). شامل دو فصل جداگانه است؛ فصل اول، آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و فصل دوم، آنتی‌بادی‌های منوکلونال. همچنین مباحث مربوط به تولید آزمایشگاهی و تولید انبوه آن و کاربردهای انواع آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و منوکلونال نیز در انتهای کتاب ذکر شده است.

کتاب دوم با عنوان آنتی‌بادی‌های نوترکیب (از تولید تا کاربرد)، است که در آن انواع آنتی‌بادی‌های نوترکیب در جانوران و گیاهان، شامل تعاریف و روش‌های تولید و نیز کاربرد آنها ذکر شده است.

در پایان از هرگونه کاستی در کتاب عذرخواهی می‌نمایم و برای همه همکاران، دانش‌پژوهان و دانشجویان عزیز کشور عزیزمان ایران از خداوند متعال طلب سلامتی و توفیق روزافزون دارم.

فاطمه رهبری‌زاده

عضو هیأت علمی گروه بیوتکنولوژی پزشکی

دانشگاه تربیت مدرس